## (12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum Internationales Büro





(43) Internationales Veröffentlichungsdatum 24. Februar 2005 (24.02.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer WO 2005/017527 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation7: G01N 33/542,
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2004/008729
- (22) Internationales Anmeldedatum:

4. August 2004 (04.08.2004)

(25) Einreichungssprache:

Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache:

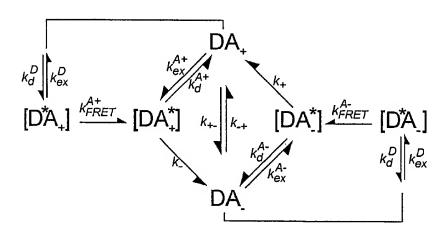
Deutsch

- (30) Angaben zur Priorität: 11. August 2003 (11.08.2003) 103 37 108.7 DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN [DE/DE]; Hofgartenstrasse 8, 80539 München (DE).

- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): JOVIN, Thomas [US/DE]; Zur Akelei 17, 37077 Göttingen (DE). JARES-ERIJMAN, Elizabeth, A. [AR/AR]; La Pampa 2768, 6 Piso-Dpto. A, 1428 Buenos Aires (AR).
- (74) Anwalt: SCHNEIDER, Peter; Fielder, Ostermann & Schneider, Obere Karspüle 41, 37073 Göttingen (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

- (54) Title: PHOTOCHROMIC RELAXATION KINETIC METHOD
- (54) Bezeichnung: PHOTOCHROMES RELAXATIONSKINETISCHES VERFAHREN



(57) Abstract: The invention relates to a method for determining a characteristic kinetic variable of a chemical reaction between a plurality of chemical species in a sample, at least one species comprising at least one fluorophore. According to said method, an imbalance state of the chemical reaction is generated by exposing the sample to light and by temporally resolved observation of at least one section of the relaxation of the concentrations of the species involved, by means of a fluorescence signal of at least one fluorophore. According to the invention, at least one product of the chemical reaction to be examined comprises a compound of two species, that respectively contain a partner of a FRET pair consisting of a FRET donor and a FRET acceptor. The invention is characterised by further steps: the FRET acceptor is a photochrome having an absorption spectrum that can be modified by means of exposition to light of a suitable wavelength; the FRET donor is a fluorophore having an emission spectrum which overlaps with the absorption spectrum of the FRET acceptor, the size of said region depending on the photochromic state of the FRET acceptor, and the light used for generating the imbalance state of the chemical reaction has a wavelength which changes the photochromic state of the FRET acceptor.

## WO 2005/017527 A1



(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

## Erklärung gemäß Regel 4.17:

- Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US

## Veröffentlicht:

mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Bestimmung einer charakteristischen, kinetischen Grösse einer chemischen Reaktion zwischen einer Mehrzahl chemischer Spezies in einer Probe, wobei wenigstens eine Spezies wenigstens einen Fluorophor enthält, umfassend die folgenden Schritte: Erzeugen eines Ungleichgewichtszustandes der chemischen Reaktion durch Beaufschlagung der Probe mit Licht und zeitaufgelöste Beobachtung wenigstens eines Abschnitts der Relaxation der Konzentrationen der beteiligten Spezies anhand eines Fluoreszenzsignals wenigstens eines Fluorophors, wobei dass wenigstens ein zu untersuchendes Produkt der chemischen Reaktion eine Verbindung zweier Spezies umfasst, die jeweils einen Partner eines aus FRET-Donor und FRET-Akzeptor bestehenden FRET-Paares enthalten. Die Erfindung zeichnet aus durch die weiteren Schritte: der FRET-Akzeptor ein Photochrom ist, dessen Absorptionsspektrum durch Beaufschlagung mit Licht einer geeigneten Wellenlänge änderbar ist, der FRET-Donor ein Fluorophor ist, dessen Emissionsspektrum mit dem Absorptionsspektrum des FRET-Akzeptors einen Überlappungsbereich aufweist, dessen Grösse von dem photochromen Zustand des FRET-Akzeptors abhängt, und das zur Erzeugung des Ungleichgewichtszustandes der chemischen Reaktion verwendete Licht eine den photochromen Zustand des FRET-Akzeptors schaltende Wellenlänge aufweist.